

На правах рукописи

Тухбатова Резеда Ильгизовна

**МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
АРХЕОЛОГИЧЕСКИХ ПАМЯТНИКОВ
НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН**

03.00.07 - микробиология
03.00.04 – биохимия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Казань - 2008

Работа выполнена на кафедрах микробиологии и биохимии биолого-почвенного факультета ГОУ ВПО «Казанский государственный университет им. В.И.Ульянова-Ленина»

Научный руководитель: доктор биологических наук, доцент
Алимова Фарида Кашифовна

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, в. н. с.
Марфенина Ольга Евгеньевна
(Московский государственный университет им. М. Ю. Ломоносова, г. Москва)

доктор биологических наук, профессор
Багаева Татьяна Вадимовна
(Казанский государственный университет им. В.И.Ульянова-Ленина, г. Казань)

Ведущая организация: Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН

Защита состоится 11 декабря 2008 г. в 13⁰⁰ часов на заседании диссертационного Совета Д 212.081.08. при Казанском государственном университете по адресу: 420008, г.Казань, ул. Кремлевская, д.18.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке им. Н.И.Лобачевского Казанского государственного университета.

Автореферат разослан «10» ноября 2008 г.

Ученый секретарь
диссертационного Совета
доктор биологических наук, профессор

З.И.Абрамова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В последние десятилетия происходит значительное усиление процессов техногенной деградации естественных экосистем, которые сопровождаются изменениями и разрушением почв, а вместе с тем трансформацией или потерей выполняемых ими биосферных и биогеоценотических функций, что может привести к труднопрогнозируемым последствиям (Добровольский, Никитин, 1990, 2000; Соколов и др., 2004). Проблема сохранения и восстановления почв, подвергающихся все большей антропогенной и техногенной нагрузке, является на сегодня одной из приоритетных в рамках защиты окружающей среды.

Чтобы оценить масштабы и спрогнозировать последствия современных форм деградации естественных экосистем, необходимо изучать процессы их регенерации или восстановления – как в целом, так и отдельных их компонентов. Среди компонентов экосистем почвенная составляющая является одной из наиболее важных, будучи связующим звеном их функционирования. В зависимости от способности почв восстанавливать свой исходный облик, и, следовательно, выполнять свои функции, будет зависеть регенерационная способность экосистем в целом.

Для изучения восстановительной способности почв за длительные промежутки времени археологические памятники оказались наиболее подходящим объектом. Наши предки дали начало уникальному природному эксперименту, длящемуся уже несколько сотен и даже тысяч лет, позволяющему оценить скорость и особенности восстановления почв. На сегодня считается, что в рамках генетического почвоведения процесс становления и эволюции профиля экспериментально практически не изучаем (Соколов, 2004). Почвообразование же на обнаженных породах разновозрастных археологических памятников может служить такой экспериментальной моделью, что имеет большое значение в рамках экологических исследований.

Современные нарушения почвенного покрова намного более масштабны и разнообразны, чем древние. Особую тревогу вызывает глобальное уменьшение запасов органического вещества в почвах (Пузаченко и др., 2006; Adams, 2004 и др.). В связи с этим остро встают вопросы о скорости гумусонакопления и направленности процессов восстановления почв при разных типах нарушений в долгосрочном прогнозе, а также принципиальной возможности почв достигать своего первоначального состояния.

Известно, что почвенные микроорганизмы являются неотъемлемой составной частью почвы. Практически все процессы, протекающие в ней, в той или иной степени связаны с жизнедеятельностью микроорганизмов (Звягинцев, 2005). Поэтому характеристика микробного сообщества относится к числу важнейших диагностических показателей, отражающих условия почвообразования (Демкин, 1997).

Цель настоящей работы – оценка степени измененности биологической активности почвы через 1000 - 3000 лет после их нарушений в результате деятельности древнего человека в условиях лесостепной зоны Волжско-Камской лесостепи.

Основные задачи исследования:

1. Оценить биологическую активность в профиле современных выщелоченных черноземов Алексеевского и Камско-Устьинского районов в местах сооружения археологических памятников и целинных почв, незатронутых деятельностью человека.

2. Исследовать биологическую активность древних черноземов Камско-Устьинского района, погребенных под периферийным валом, трансформировавшихся в гидроморфных и автоморфных условиях в течении 1000 лет на примере Больше-Кляринского городища (VIII – X вв. н. э.).

3. Определить характер и особенности нарушений биологической активности новообразованных в гидроморфных и автоморфных условиях почв за период 1000 лет на поверхности вала в результате антропогенной деятельности при формировании древнего городища.

4. Определить характер и особенности нарушений биологической активности палеопочв за период 3000 лет в местах сооружения захоронений на примере Мурзихинского II могильника (VIII – VI вв. до н. э.).

5. Изучить изменение видового состава, популяционной структуры и стратегии жизни грибов рода *Trichoderma* в новообразованных, погребенных и фоновых почвах разного возраста.

6. Определить возможности использования биологических методов изучения почв в решении археологических задач.

Научная новизна работы. Впервые исследована биологическая активность черноземов, погребенных под периферийным валом 1000 лет назад на Больше-Кляринском городище Камско-Устьинского района Республики Татарстан, трансформировавшихся в гидроморфных и автоморфных условиях.

Впервые исследована биологическая активность погребенных черноземов в останках человеческих захоронений Мурзихинского II могильника Алексеевского района Республики Татарстан.

Впервые дана оценка состояния биологической активности в почвенном профиле лесостепной зоны Волжско-Камской лесостепи через 1000-3000 лет после прекращения деятельности человека.

Впервые выявлены сукцессионные изменения состава микромицетного сообщества рода *Trichoderma* и его популяционной структуры в черноземных палеопочвах. Показано, что характерным для погребенных почв Мурзихинского II могильника был вид *H. schweinitzii*/ *T. citrinoviride*, для Больше – Кляринского городища и со-

временных горизонтов – *T. asperellum*, для последнего отмечены различия в ITS последовательностях при расщеплении на клоны.

Практическая значимость работы. Полученные результаты по почвенному мониторингу могут быть использованы в учебном процессе, для реконструкции динамики палеоэкологических условий лесостепной зоны Волжско-Камской лесостепи за последние 3000 лет, для прогнозирования изменения микробных сообществ в природном и антропогенном трендах развития почв.

Показана возможность восстановления биологической активности и видового разнообразия современных антропогенно нарушенных почв за счет интродукции почвенных микроорганизмов палеопочв. Получены положительные отзывы от предприятий по предварительным опытам по использованию штаммов *Trichoderma* из погребенных почв в сельскохозяйственной биотехнологии.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Погребенные почвы в местах проживания древнего населения (1000 - 3000 лет назад) характеризуются достоверными изменениями биологической активности.
2. В новообразованных гидроморфных горизонтах показано соответствие уровня содержания гумуса и биологической активности уровню современных целинных почв в отличие от новообразованных автоморфных горизонтов.
3. Исследованные палеопочвы характеризуются большим видовым разнообразием и меньшей гетерогенностью популяций рода *Trichoderma* по сравнению с современными видами микромицета.
4. Наиболее типичными видами были: в почвах Мурзихинского II могильника - вид *H. schweinitzii*/ *T. citrinoviride*, Больше-Кляринского городища и современных горизонтов – *T. asperellum*.
5. Из погребенных почв выявлены изоляты секции *Longibrachiatum*, которые располагаются ближе всех к основанию филогенетического древа и могут являться предковыми для современных видов грибов рода *Trichoderma*.

Апробация работы. Материалы диссертации представлены на итоговых научно-образовательных конференциях Казанского государственного университета (Казань, 2004 - 2008), «Ферменты микроорганизмов: структура, функции, применение» (Казань, 2005), «Грибы и водоросли в биоценозах» (Москва, 2006), «Итоги и перспективы научных исследований по проблеме экологии человека и гигиены окружающей среды» (Москва, 2006), «9th International Workshop on *Trichoderma* and *Gliocladium*» (Vienna, 2006), «Symposium of Biology Students (Ancona, 2006), «Экология и биология почв» (Ростов-на-Дону, 2006), «Биология- наука 21 века» (Пущино, 2006, 2007), «Ломоносов – 2007» (Москва, 2007), «International Mycological SymBioSE» (2006), «Успехи медицинской микологии» (Москва, 2007), «Межвузов-

ская конференция молодых ученых и студентов (Казань, 2007), «Научно-техническое творчество молодежи» (Москва, 2007), «Микроорганизмы и биосфера» (Москва, 2007), «XV Congress of European Mycologists» (Saint Petersburg, 2007), «Симбиоз» (Казань, 2008).

Публикации. По результатам диссертации опубликовано 13 научных работ, в том числе 2 статьи в изданиях, рекомендуемых ВАК, и 1 учебное пособие.

Структура и объем работы. Общий объем диссертации 178 страниц. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов исследований, обсуждения результатов, выводов, заключения, списка литературы. Работа содержит 14 таблиц и 32 рисунка. Список литературы включает 200 источников, в том числе 80 иностранных.

Место проведения работы и благодарности. Работа выполнена на кафедрах микробиологии и биохимии ГОУ ВПО КГУ. Автор выражает глубокую признательность научному руководителю д.б.н., доц. Алимовой Фариде Кашифовне за внимательное отношение к работе; д.б.н., проф. Ильинской О.Н. за возможность проведения микробиологических исследований на базе кафедры микробиологии; к.х.н., к.б.н. Мельникову Л. В. за помощь при отборе и физико-химическом анализе образцов почв; с.н.с. Гарусову А.В. за помощь при хроматографических исследованиях азотфиксации и респираторной активности почв; инж. Мочаловой Н.К. и инж. Пономаревой А.З. за консультации при проведении микробиологического мониторинга почв; к.б.н., асс. Зеленихину П.В. за помощь при проведении микрофотосъемки грибов; к.б.н., асс. Кравцовой О.А. и аспиранту Ибрагимовой И. И. за помощь в проведении молекулярно-генетических исследований штаммов *Trichoderma*; к.б.н., с.н.с. Акберовой Н.И. за консультации по статистической обработке данных; аспиранту Морозову М.В. за помощь в проведении АСМ-микроскопии; д.б.н. Дружининой И. С. (Vienna University of Technology, Австрия) за помощь при проведении секвенирования изолятов *Trichoderma*; к.б.н., н.с. Скворцову (ВНИИВИ) и инж. Мельниковой Т.А. (ОАО «Холод») за помощь в проведении исследований ферментативной активности; аспирантам и студентам лаборатории сельскохозяйственной биохимии и биотехнологии кафедры биохимии.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследований

Отбор образцов почвы из Мурзихинского II могильника Алексеевского района РТ.

Мурзихинский II могильник расположен в 3-3,5 км к востоку от бывшего с. Мурзиха, в 5 км к северо-западу от с. Алексеевск. Образцы почвы были отобраны из внутренней части 2 человеческих черепов, обнаруженных во время археологических

раскопок на Мурзихинском II могильнике. Первый череп был найден в погребении 196, принадлежал мужчине 30 лет, представителю постмаклашеевской культуры (8-6 вв. до н.э., ранний железный век). Второй был извлечен из погребения 162, пол его не определен.

Как было показано, образцы почвы попали в погребения при захоронении из верхней части горизонта (А₁) старопахотного выщелоченного чернозема. Структурно-агрегатный анализ показал, что, несмотря на весьма низкое для данной разновидности по гранулометрическому составу содержание гумуса в сравнении с собственно целинными аналогами (6,6% при содержании физической глины 65% и илистой фракции 45%), почва характеризуется хорошим структурным состоянием. Распределение гумуса во фракциях однородное (Мельников, 2007).

Отбор образцов почвы из Больше-Кляринского городища.

Создание Больше-Кляринского городища относится к болгарскому раннему периоду. Расположено оно в 1 км к северо-западу от с. Большие Кляри Камско-Устьинского района РТ на левом берегу речки Сухой Улемы.

Больше-Кляринское городище - характерное для данной культуры городище-убежище, представляющее собой комплекс сопряженных валов и рвов. Время строительства объекта относится ориентировочно к VIII-X вв. Почвенный покров при формировании древнего городища имел уклон, вследствие чего одна часть вала располагалась выше, а другая ниже уровня моря с различными условиями увлажненности атмосферными осадками. Тип почвы в исследуемом районе отнесен к среднemosному среднегумусному тяжелосуглинистому выщелоченному чернозему. **Погребенная** почва под периферийным валом представляет собой гумусовый слой, трансформировавшийся в гидроморфных (Гп) и автоморфных (Ап) условиях, вследствие чего сформировались различные условия консервации гумусового горизонта. Почвенный покров над погребенной почвой представлен периферийным валом и представляет собой **новообразованный** гумусовый слой, также трансформировавшийся в гидроморфных (Гн) и автоморфных (Ан) условиях.

Отбор образцов проводили при полевом обследовании фортификационных сооружений городища в 2004-2005 гг. Пробы отбирали из 1) погребенной почвы под периферийным валом, 2) новообразованного в течение 1 тыс. лет чернозема в верхней части толщи вала, 3) целинного чернозема, располагавшегося в стороне от городища, незатронутого деятельностью человека (табл. 1).

Образцы почвы (табл. 1) отобраны в соответствии с правилами отбора проб для микробиологического анализа с соблюдением условий стерильности из нескольких точек каждого слоя насыпи или выборочных слоев и гор. А1 погребенных почв и их современных аналогов.

В дальнейшем образцы для каждого слоя/горизонта усредняли (Методы ..., 1991).

Таблица 1

Характеристика чернозема в районе Больше-Кляринского городища и Мурзинского II могильника

Варианты опыта	Горизонт	Глубина отбора, см	Гумус, %	pH	C, %	C : N	Валовое содержание N, %
Мурзинский II могильник							
Мк-контроль (целина)	A ₁	0 – 10	6,37	6,2	4,8	12,3	0,245
Мн-новообразованная почва	A ₁	0-35	6,5	6,3	3,4	11,5	0,367
Мп1 - погребенная почва	[A ₁]	70-110	6,6	6,6	3,7	11,8	0,217
Мп2 - погребенная почва	[A ₁]	80-120	6,6	6,7	3,8	12,2	0,256
Больше – Кляринское городище							
Ц – контроль (целина)	A ₁	10 – 40	7,72	6,9	4,5	13,7	0,266
гидроморфные горизонты							
Гн - новообразованная почва	A ₁	20 – 40	8,0	6,4	4,6	13,2	0,409
Гнк - новообразованный коричневатый слой	[EA ₁]	122-130	3,75	6,4	2,2	11,6	0,118
Гп1 - погребенная почва	[A ₁]	130-148	7,9	6,3	4,6	10,9	0,420
Гп2 - погребенная почва	[A ₁]	148-158	7,86	6,3	4,5	12,3	0,423
автоморфные горизонты							
Ан - новообразованная почва	A ₁	20-52	5,6	6,2	3,2	14,7	0,218
Ап1 - погребенная почва	[A ₁]	52-77	6,45	7,9	2,1	16,9	0,222
Ап2 - погребенная почва	[A ₁]	77-89	6,7	8,3	3,7	17,2	0,107

Почвенные микробные сообщества исследованных объектов характеризовали по численности и активности. Определение численности микроорганизмов в почве проводили методом прямого счета в люминесцентном микроскопе по Звягинцеву и Кожевину и посева на питательные среды (Головченко и др., 1995; Кожевину, 1989; Методы ..., 1991). Количественный учет грибов проводился методом Хансена в модификации Мирчинк (1988).

Активность азотфиксации в почве измеряли методом Харди в модификации Умарова (Гарусов с соавт., 2006), определение активности почвенного дыхания

осуществляли на газовом хроматографе (Гарусов с соавт., 2006).

Углерод микробной биомассы рассчитывали по скорости субстрат - индуцированного дыхания с использованием коэффициента пересчета 40,04 (Anderson, Domsch, 1978).

Выделение *Trichoderma* из образцов почвы проводили методом серийных разведений с последующим высевом на среду с пароморфогенным веществом (Бенкен, Хацкевич, 1972).

Моноспоровые культуры грибов получали методом разведения конидиальной суспензии в различных модификациях (Васин, 1966; Кузнецов и др., 1968), (Лихачев, 1994).

Идентификация по морфологическим признакам проводилась по ключу Александровой (Александрова с соавт., 2001), Samuels (2003) и Chaverri (2003), молекулярно-генетическим методом и методом ООП (объектно-ориентированный подход) по Тарасову (2006).

Изучение морфологии поверхности спор *Trichoderma* проводили при помощи атомно-силового микроскопа NTEGRA Prima (NT-MDT). Изображения были получены полуконтактным методом (Миронов, 2004; Бухараев с соавт., 2006).

Выделение ДНК, ПЦР-анализ, секвенирование. ДНК было выделено из свежего мицелия фенол/хлороформным методом (Druzhinina et al., 2005).

Участки ядерной рДНК, содержащие ITS1 и 2 и ген *tef1*, были амплифицированы в реакции ПЦР и секвенированы с использованием комбинации праймеров: SR6R (5'-AAG TAG AAG TCG TAA CAA GG-3') и LR1 (5'-GGT TGG TTT CTT TTC CT-3'); EF1-728F (5'-CAT CGA GAA GTT CGA GAA GG-3') и EF1-986R (5'-TAC TTG AAG GAA CCC TTA CC-3').

Идентификацию нуклеотидных последовательностей проводили с использованием программы TrichoMark – TrichoBLAST.

Результаты секвенирования фрагмента гена *tef1* обрабатывали при помощи пакета программ Lasergene 5.03 (DNASTAR, Inc., США). Программа SeqMan использовалась для анализа сиквенсных хроматограмм. Программа MegAlign использовалась для выравнивания последовательностей и экспорта их в формате GCG.

Вегетативную совместимость моноспоровых клонов изучали по Дьякову и Долговой (1995).

Антагонистическую активность и конкурентоспособность изолятов *Trichoderma* определяли методом встречных культур на среде Чапека (Симонян и Мамиконян, 1982).

Гетерогенность популяций выделенных изолятов оценивали по их разделению на культурально-морфологические типы (КМТ) и появлению секторов при росте на чашках Петри (Дьяков, 1998).

Определение ксиланазной, протеазной и целлюлазной активностей изолятов *Trichoderma* проводили по Кониг и Скворцову (Konig, 2002, Скворцов, 2007).

Определение фитотоксичности культуральной жидкости и почвы проводили на семенах растений (Методы ..., 1991).

Статистическую обработку результатов проводили с помощью электронных таблиц Microsoft Excel, Statgraphics plus 2.1.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

1. Микробиологическая характеристика выщелоченных черноземов в районе расположения археологических памятников: 1) Больше-Кляринского городища (Камско-Устьинский район) и Мурзихинского II могильника (Алексеевский район)

Нами были исследованы такие показатели как численность и микробная биомасса, количественная и функциональная структура сообщества микроорганизмов, респираторная активность и интенсивность азотфиксации.

1.1. Оценка биологической активности современных горизонтов в районе расположения археологических памятников: 1) Больше-Кляринского городища (Камско-Устьинский район) и Мурзихинского II могильника (Алексеевский район)

До описания погребенных почв нами были охарактеризованы современные фоновые почвы в районе расположения памятников: 1) Больше-Кляринского городища (Камско-Устьинский район) и Мурзихинского II могильника (Алексеевский район) (табл. 1).

Сравнительный микробиологический анализ современных горизонтов фоновых почв показал, что выщелоченные черноземы Камско-Устьинского района характеризуются более высоким уровнем интенсивности дыхания (в 3 раза выше), азотфиксации (в 2 раза), биомассы и численности отдельных групп микроорганизмов: гетеротрофов (в 2 раза), бактерий, потребляющих минеральные формы азота (в 1,5 раза) и олиготрофов (в 1,5 раза) по сравнению с исследованными почвами в Алексеевском районе. Микроорганизмов - педотрофов и спорообразующих бактерий, численно преобладавших в последнем районе, в 2 и 5 раз выше, соответственно, чем в черноземах Камско-Устьинского района. Наблюдаемые нами различия вероятно связаны с физико-химическими параметрами почв и географическим расположением исследуемых объектов (Звягинцев, 2005; Марфенина, 2001; Мирчинк, 1988) (табл. 1).

Таким образом, при равных одинаковых типах черноземов (выщелоченных) в современных целинных почвах нами отмечается различие в содержании гумуса, что коррелирует с активацией различных групп микроорганизмов.

1.2. Микробиологический анализ погребенных и новообразованных почв в районе Больше-Кляринского городища

1.2.1. Микробиологическая характеристика почв Больше-Кляринского городища, трансформировавшихся в гидроморфных условиях водного режима

Сравнительный анализ современной фоновой, новообразованной на поверхности вала и погребенной почв городища, трансформировавшихся в гидроморфных условиях водного режима, показал, что в погребенной почве возрастает численность спорообразующих, сульфатредуцирующих бактерий, бактерий рода *Azotobacter* и *Clostridium* на фоне увеличения респираторной активности и процессов минерализации органического вещества.

По данным Заварзина (2003) активность микроорганизмов может возрастать при уменьшении размера структурных агрегатов почвы и увеличении их поверхности. Структурно-агрегатный состав является одним из важных показателей, характеризующих состояние почвы, и может служить важным признаком при выявлении изменений, которым подверглась почва, погребённая под толщей вала, главным образом, её верхний горизонт (A1) (Копосов, 2004, Мельников, 2007). Показано, что на территории городища со временем в результате диагенеза, происходит изменение структурного состава в сторону укрупнения структурных отдельностей (глыбистый состав). Отмечено некоторое уменьшение содержания фракций среднего размера в образцах погребённой почвы в пользу фракций более крупного размера. Анализ же состава водопрочных агрегатов показал резкое уменьшение содержания крупных фракций и увеличения более мелких, что особенно заметно в гидроморфном образце. Наблюдаемое нами возрастание потенциальной респираторной активности можно объяснить уменьшением размеров структурных агрегатов в палеопочве (Мельников, 2007).

В погребенном слое количество микроорганизмов - активных гумусообразователей ниже, чем в новообразованном (на 20%). В новообразованной по сравнению с погребенной почвой отмечено возрастание гетеротрофных, потребляющих минеральные формы азота и денитрифицирующих микроорганизмов и увеличение метаболического коэффициента. Можно отметить возрастание жизнеспособности и активности в новообразованной почве и снижение активности в палеопочве автохтонной микрофлоры, участвующей в процессе гумусоразложения.

По данным численности микроорганизмов «коричневый слой» характеризуется наименьшей напряженностью процессов, за исключением молочно - кислых бактерий – деструкторов, кислотообразователей. По данным коэффициентов педотрофности, олиготрофности в коричневом слое отмечена и слабая функциональная активность. Выявлена также тенденция к снижению интенсивности азотфиксации и дыхания в коричневом слое по сравнению с современной и погребенной почвами. Этот слой можно рассматривать как промежуточный от стадии разрушения и обра-

зования минералов к накоплению органического вещества с последующим формированием гумусового слоя.

1.2.2. Микробиологическая характеристика почв Больше-Кляринского городища, трансформировавшихся в автоморфных условиях водного режима

Сравнительный анализ погребенной и новообразованной на валу почвы, трансформировавшейся в автоморфных условиях водного режима, показал, что в условиях консервации в погребенной почве сохранилось более высокое содержание гумуса - 6,4-6,7% против 5,6%. В автоморфном новообразованном слое отмечено увеличение численности автохтонной и олиготрофной микрофлоры, бактерий, потребляющих минеральные формы азота, участвующих в процессах разложения гумуса, гетеротрофов на фоне возрастания метаболического коэффициента. При их высокой активности в почве создается низкий поток доступных питательных веществ, что является стимулирующим фактором для олиготрофов, способных развиваться только в таких условиях.

Показателем активности почвенных гетеротрофных микроорганизмов является дыхание, а азотфиксирующих бактерий - интенсивность азотфиксации. В погребенной почве нами отмечено возрастание потенциальной активности газообмена и численности бактерий рода *Azotobacter*. Аналогичная картина описана для светло-каштановой почвы Ипатовского кургана-могильника степного Предкавказья (Цховребов, Каргалев, 2000).

Сравнительный анализ гидроморфных и автоморфных почв, погребенных в течение 1000 лет и новообразованных в результате деятельности древнего человека, показал, что в гидроморфной новообразованной почве содержание гумуса соответствует уровню погребенной, а в автоморфной новообразованной почве – ниже на 1%. Эти данные полностью коррелируют с биологической активностью в исследованных районах. Предполагается, что гидроморфные условия способствуют консервации гумуса при погребении почв и увеличению его при новообразовании (Мельников, 2007).

Новообразованные автоморфные и гидроморфные горизонты характеризуются тенденцией к восстановлению общей биологической активности и содержания гумуса, однако полное восстановление гумусового горизонта и сходство с целинными аналогами, где наблюдались естественные эволюционно - сукцессионные изменения, отмечено только в последнем случае, что вероятно связано со степенью структурированности, биологической активностью и комплексом физико-химических факторов, наибольшее значение среди которых имеет фактор увлажнения.

Выявлены новообразованные гидроморфные горизонты, характеризующиеся тенденцией к восстановлению по данным общей биологической активности, а также

новообразованные автоморфные горизонты, характеризующиеся более медленной тенденцией к восстановлению активности и содержания гумуса.

1.3. Микробиологический анализ погребенных и новообразованных почв в районе Мурзихинского II могильника (Алексеевский район)

Сравнительный анализ современной и погребенной почв в районе могильника показал увеличение в последних численности спорообразующих бактерий, педотрофов, олиготрофов, денитрификаторов и клостридий на фоне увеличения содержания биомассы и метаболического коэффициента. В современной почве отмечена более высокая интенсивность дыхания и азотфиксации (на 15 – 20%). Новообразованная и погребенная почвы схожи по содержанию гумуса и структуре микробного сообщества, что позволяет сделать выводы о полном восстановлении биологической активности почвы.

Сравнительный анализ погребенного чернозема Алексеевского района с почвами Камско - Устьинского района показал, что в гидроморфной почве выше численность гетеротрофов, бактерий, потребляющих минеральные формы азота, сульфатредукторов, олиготрофов и бактерий рода *Azotobacter*, а также интенсивность азотфиксации и дыхания; в автоморфной - больше денитрификаторов и клостридий. В почве могильника выше численность спорообразующих и молочно-кислых бактерий, педотрофов. По содержанию гумуса почвенные горизонты схожи с автоморфной почвой (6,6%), в гидроморфной - на 1% больше. Таким образом, описана общая биологическая активность почв в районе расположения археологических памятников – Больше-Кляринского городища и Мурзихинского II могильника. Биологическая активность убывает в ряду гидроморфные почвы городища – почвы могильника – автоморфные почвы городища.

1.4. Микологическая характеристика выщелоченных черноземов в районе расположения археологических памятников

Информативным биотическим носителем почвенной памяти обоснованно может служить почвенная микобиота (Таргульян, 2005). Нами было проведено исследование численности и биомассы микроскопических грибов в современной фоновой, новообразованной и погребенной почвах в районе расположения археологических памятников.

Анализ численности грибов в изученных почвах выявил тенденцию к увеличению числа КОЕ в ряду от современных к погребенным почвам. По данным прямого учета были отмечены отличия в распределении содержания биомассы грибов. В почвенных образцах в районе городища эти показатели ниже в 3-4 раза. Как правило, между показателями численности КОЕ грибов и содержанием грибной биомассы наблюдается прямая положительная корреляция (Терехова, 2007). Это явление было характерно и для наших почв (рис. 1).

На основании численности КОЕ исследованные почвы (кроме образцов Ц, Гн и Гнк городища) могут быть отнесены к умеренно заселенным грибами. А образцы современной фоновой почвы (Ц), новообразованной почвы на поверхности вала (Гн) и новообразованного коричневого слоя (Гнк) – к мало заселенным грибами.

Рис. 1. Численность и биомасса микроскопических грибов в почвах археологических памятников.

Индексы видового разнообразия грибных комплексов (H') в погребенных почвах имели наибольшие значения (3,1-3,3), максимум отмечен в погребенной почве могильника (3,3). Самыми скудными оказались современные фоновые и новообразованные почвы: здесь выделено меньше видов микромицетов. Увеличение видового разнообразия грибных комплексов может быть связано с физико-химическими свойствами почвы, некоторые из которых, например такие, как нейтрализация почв, способствуют увеличению грибного биоразнообразия (Марфенина, 2001).

При изучении видового состава микроскопических грибов выщелоченного чернозема было обнаружено 42 вида грибов. Современные почвы характеризуются снижением видового разнообразия микроскопических грибов, частоты встречаемости грибов рода *Trichoderma* и увеличением частоты встречаемости фитопатогенных грибов таких, как *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*. Кластерный анализ комплексов микромицетов исследованных почв, проведенный на основании представленности и частоты встречаемости видов, показал существенные отличия современных почв от погребенных. Наибольшим сходством характеризовались комплексы грибов погребенной почвы могильника и гидроморфной почвы городища. В другой крупный кластер были объединены комплексы микроскопических грибов, выделенные из современных фоновых и новообразованных почв. Комплекс микромицетов, выделенный из новообразованного коричневого слоя почвы в толще вала, наиболее отличал-

ся от всех исследованных: здесь было выделено меньше всего видов грибов и частота встречаемости их была ниже, чем в других образцах.

Известно, что ответственными за плодородие и супрессивность почв являются представители рода *Trichoderma* (Kubicek *et al.*, 2001; Benítez *et al.*, 2004; Ленглер, 2005; Алимова и др., 2007). Погребенные почвы являются природными резервуарами сохранения численности и видового разнообразия видов рода *Trichoderma*, где частота встречаемости составляет более 60% (Алимова, 2006).

2. Характеристика *Trichoderma* из погребенных почв

2.1. Видовое разнообразие почвенных грибов рода *Trichoderma* из погребенных черноземов Камско-Устьинского и Алексеевского районов

Из исследованных образцов погребенных почв нами было выделено 135 изолятов рода *Trichoderma*. Из погребенных почв было выявлено 17 видов *Trichoderma*, идентифицированных по морфологическим признакам, молекулярно-генетическому анализу и с использованием объектно-ориентированного подхода (Тарасов, 2006).

Наиболее распространенным и часто встречающимся оказался вид *T. citrinoviride*. На втором месте по распространенности стоит *T. longibrachiatum*, на третьем – *T. atroviride*. Далее следуют *T. harzianum*, *T. hamatum*, *T. oblongisporum*, *T. viride*, *T. koningii*, *T. asperellum*, *T. saturnisporum*, *T. spirale* (табл. 2). Также нами была выделена группа новых, неидентифицируемых изолятов (19 изолятов), отнесенных по данным молекулярно-генетического анализа к одному виду.

Изоляты *Trichoderma*, выделенные из погребенных почв, отличались от современных более высокой интенсивностью окраски колоний; более пышным ростом воздушного мицелия; наличием у представителей секции *Longibrachiatum* способности выделять ярко-желтый пигмент в среду и сильно выраженного кокосового запаха. Для экстипов этих изолятов было отмечено явление фотопериодизма (спороношение концентрическими кругами).

Морфологические исследования конидий с использованием АСМ-микроскопии позволили выделить изоляты одного вида (*T. asperellum*) с разными по структуре поверхностями спор: от гладкой из гидроморфного горизонта до шероховатой из автоморфного (рис. 2).

2.2. Систематика с помощью объектно-ориентированного подхода (ООП)

Нами совместно с Тарасовым Д. С. была предпринята попытка построения систематики рода *Trichoderma* из палеопочв по формализованным морфологическим и фенотипическим признакам с помощью объектно-ориентированного подхода (ООП). ОО-подход предоставляет классификационные средства, для которых в биологических систематиках нет аналогов (например, множественное наследование). Такие классификационные средства позволяют в явном виде указать известные за-

кономерности признаков, либо использовать автоматический алгоритм поиска закономерностей.

Таблица 2

Список видов и количество изолятов грибов рода *Trichoderma*, обнаруженных в районе археологических памятников

Вид	Количество изолятов (могильник/городище)
<i>T. citrinoviride</i> sect. <i>Longibrachiatum</i>	10/5
<i>T. longibrachiatum</i> sect. <i>Longibrachiatum</i>	7/3
<i>T. atroviride</i> sect. <i>Trichoderma</i>	6/5
<i>T. harzianum</i> sect. <i>Pachybasium</i>	5/5
<i>T. hamatum</i> sect. <i>Trichoderma</i>	5/7
<i>T. oblongisporum</i>	5/3
<i>T. viride</i> sect. <i>Trichoderma</i>	5/4
<i>T. koningii</i> sect. <i>Trichoderma</i>	6/4
<i>T. asperellum</i> sect. <i>Trichoderma</i>	12/15
<i>T. saturnisporum</i> sect. <i>Longibrachiatum</i>	2/1
<i>T. spirale</i> sect. <i>Pachybasium</i>	0/1
<i>T. spp. 1</i>	4/0
<i>T. spp. 2</i>	2/1
<i>T. spp. 3</i>	3/0
<i>T. spp. 4</i>	3/2
<i>T. spp. 5</i>	2/1
<i>T. spp. 6</i>	1/0
Сумма	135

Рис. 2. Конидии *T. asperellum*: А – изолят, выделенный из погребенной гидроморфной почвы Больше-Кляринского городища; Б – изолят, выделенный из погребенной автоморфной почвы Больше-Кляринского городища (атомно-силовой микроскоп).

Основными сущностями, с которыми оперируют предлагаемые описания, это клетки, способные делиться в различных направлениях, специализироваться в клетки гифы, конидиеносцы, фиалиды и споры, а также обладающие различными свой-

ствами – размерами, цветом, способностью к выделению пигмента и т.п. Таким образом, мы перепроверили изоляты, идентифицированные по морфологическим признакам.

2.3. Молекулярно-генетический анализ изотятот *Trichoderma*

Изоляты, выделенные из погребенных почв, были идентифицированы с помощью молекулярно-генетических методов. Для идентификации использовались праймеры к гену *tef1* (EF1-728F и EF1-986R) и ITS 1 и 2 (SR6R и LR1), как наиболее отвечающие требованиям идентификации (Druzhinina et al., 2005). Полученные последовательности были идентифицированы в Базе данных нуклеотидных последовательностей TrichoBLAST с 98-100% гомологией. На основе полученных последовательностей методом Bayesian анализа было построено древо, отражающее филогенетическое положение исследованных изолятов (рис. 3). Ближе всех к основанию филогенетического древа находились представители секции *Longibrachiatum* (*T. longibrachiatum* и *T. citrinoviride*). Кругом на рис. 3 обозначен изолят с уникальной последовательностью, неимеющей гомологов в базе данных. Он располагается между *H. strictipilis* и *H. lutea*.

Нами была исследована внутривидовая изменчивость изолятов *Trichoderma* при расщеплении гетероспоровой популяции на моноспоровые клоны на примере *T. asperellum* 204 (сравнивались нуклеотидные последовательности ITS 1 и 2 «родителя» - 204(0) и его «клонов» - 204(1) и 204(2)).

Рис. 3. Древо, построенное с использованием Bayesian анализа, изолятов *Trichoderma*, выделенных из погребенных почв, основанное на сиквенсах ITS 1 и 2.

Обнаружена невысокая изменчивость между основными исследуемыми ДНК различных изолятов, относящихся к одному виду. Полученные последовательности были гомологичны друг другу на 92-98%, а значимой считается разница в 20% и более внутри одного вида (Druzhinina, 2007).

2.4. Характеристика структуры природных популяций *Trichoderma*

Природные популяции грибов представляют собой мозаику клонов, одним из изолирующих механизмов которых являются различные культурально-морфологические типы колоний, реакции вегетативной совместимости и гетерокариоз (Лихачев, 1998; Дьяков, 2005; Алимова, 2006). Нами были исследованы гетерогенные популяции *Trichoderma*, выделенные из погребенных почв в районе расположения археологических памятников, и их расщепление на клоны.

Показано, что в большинстве случаев исследованные изоляты представлены агрегатами гетерогенных популяций. Сравнение общих частот реакций совместимости (63%) и несовместимости (37%) указывает на наличие тенденции относительно сдвига в сторону реакций смешанного типа и вегетативной совместимости. В состав аборигенных изолятов *Trichoderma*, входят гетерогенные и моноспоровые клоны, представленные двумя культурально – морфологическими типами (II, IV).

2.5. Прорастание конидий изолятов *Trichoderma*

Прорастание спор является первым и важным этапом жизненного цикла грибов и во многом определяет возможность развития популяции грибов в почвах. В результате исследования прорастания спор изолятов, выделенных из погребенных почв в воде, в опытах *in vitro*, мы выявили время, необходимое для образования ростовой трубочки, которое составило от 12 до 16 ч в зависимости от вида *Trichoderma* (рис. 4). Для прорастания конидий изолятов, выделенных из современной почвы, необходимо было от 6 до 12 ч. Видимо, фунгистатический эффект связан с тем, что грибные споры находились в погребенной почве в неактивном состоянии (Марфенина, 2008; Демкин, 2007).

Рис. 4. Прорастание конидий микромицетов рода *Trichoderma* в зависимости от времени (А - начало опыта; Б - прорастание спустя 15 часов; В – дальнейший рост). Увеличение $\times 100$.

2.6. Скорость роста, изменение скорости роста при расщеплении

Для большинства изолятов *Trichoderma*, выделенных из погребенных почв, оптимальной является температура 28°C. Из могильника были выявлены изоляты, оптимум роста которых приходился на 37°C. Среди исследованных изолятов, выделенных из погребенной почвы городища, нами были выявлены несколько психротолерантных видов с $T^{0\text{опт}}$ - 15°C (изоляты *T. asperellum* 204, *T. asperellum* 204(1), *T. asperellum* 204(2), *T. spirale* 215). Наибольшая скорость роста (1,2 – 1,4 мм/час) отмечена у изолятов *T. citrinoviride* и *T. atroviride* на среде КГА. Исходные штаммы состояли из клонов, неоднородных по скорости роста. В составе гетероспоровых популяций были изоляты как с меньшей, так и большей скоростью роста, по сравнению с родительским изолятом.

2.7. Интенсивность спороношения *Trichoderma*

Исследования интенсивности спороношения выявили как видовую дифференциацию, так и клональную изменчивость. Наибольшая интенсивность спороношения характерна для *T. asperellum* и *T. longibrachiatum* ($110-140 \cdot 10^5$ конидий/мл), во вторую группу были отнесены *T. koningii* и *T. harzianum* ($90-110 \cdot 10^5$ и $80-90 \cdot 10^5$ конидий/мл), а в третью - *T. hamatum* и *T. citrinoviride* – $60-80 \cdot 10^5$ конидий/мл.

При расщеплении на клоны отмечено увеличение или уменьшение интенсивности спороношения у клонов по сравнению с родительским изолятом. Увеличение отмечено у 41% исследованных изолятов, уменьшение – у 59%.

2.8. Антагонистическая активность изолятов *Trichoderma* по отношению *F. oxysporum*

Нами рассматривалась внутривидовая и видовая дифференциация по признаку взаимоотношения с фитопатогенным грибом *F. oxysporum* в опытах in vitro. По литературным данным *Fusarium* является наиболее сложным для подавления *Trichoderma* фитопатогеном (Gutierrez et al., 2006; Алимова с соавт., 2007).

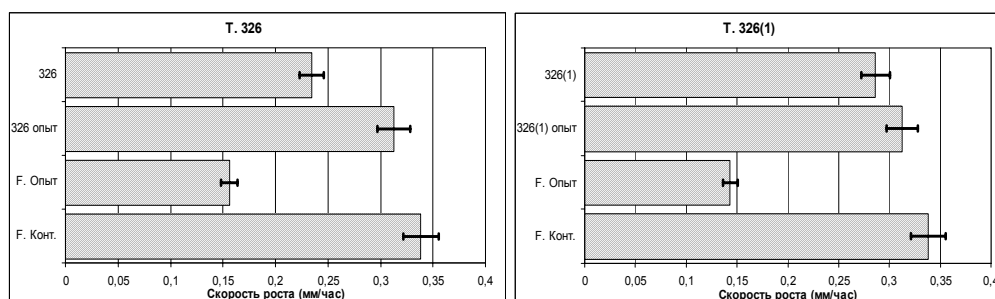


Рис. 5. Антагонистическая активность изолята *T. saturnisporum* 326 и его клона *T. saturnisporum* 326(1) по отношению к *Fusarium oxysporum* на среде Чапека при 15°C.

Для 23,4% исследуемых изолятов характерен В-тип антагонистической активности (обоюдное подавление при контакте). С-тип антагонистической активности (обоюдное подавление на расстоянии) характерен для 8,6% исследованных штам-

мов. В₁-тип реакции (обоюдное подавление при контакте с дальнейшим переходом к паразитизму) выявлен у 5,6% изолятов. Менее всего выражена антагонистическая активность при 15⁰С. Психотрофные антагонисты фитопатогенов составили менее 3% от общего числа исследованных изолятов. Выявлены конкурентоспособные холодостойкие (10-15⁰С) и мезофильные виды (25-28⁰С) с высокой антагонистической активностью к фитопатогенам.

При изучении антагонизма биопрепарата важен так же механизм взаимодействия с возбудителем, показателем которого является индекс антагонизма. Среди гетероспоровых штаммов преобладает В тип антагонистической активности. Только изолят *T. asperellum* 303 характеризуется высокой антагонистической активностью по отношению к *F. oxysporum* при 15⁰С.

Нами было проведено сравнительное исследование изменения антагонистической активности при расщеплении гетероспорового комплекса на моноспоровые клоны (рис. 5).

У моноспоровых изолятов *T. citrinoviride* 320(1) и *T. citrinoviride* 320(2) вид антагонистической активности соответствует виду исходного гетерогенного штамма *T. citrinoviride* 320 – В тип. Степень колонизации (С%) у моноспоровых клонов увеличивается в 15 и 10 раз, соответственно, скорости роста антагонистов и фитопатогена в опыте уменьшаются незначительно (на 1%).

Большинство моноспоровых изолятов рода *Trichoderma*, выщепляющихся из гетерогенных популяций (65%), характеризуются более высокой антагонистической активностью по отношению к *F. oxysporum*.

2.9. Стратегии жизни изолятов *Trichoderma*

Изучение интенсивности спороношения, вегетативной совместимости, конкурентоспособности, кинетических параметров, антагонистической активности позволило выявить стратегии жизни изолятов *Trichoderma* из погребенных почв.

Анализ выделенных изолятов *Trichoderma* по стратегии жизни показал, что среди изолятов современных горизонтов преобладали виды с г-типом стратегии (до 75%), а в погребенных почвах городища и могильника - с гК – типом стратегии: из них 54% тяготеет к г-стратегам, 20% - переходные формы между г- и К-, 25% - тяготеет к К-стратегам. Популяционная структура видов характеризовалась тенденцией к увеличению клонов с г-стратегией от палеопочв к современным горизонтам.

2.10. Ферментативная активность изолятов *Trichoderma*

Изоляты рода *Trichoderma*, выделенные из палеопочв, характеризуются высокой целлюлазной, протеазной и ксиланазной активностями. Максимальная целлюлазная активность установлена у изолята *T. asperellum* 328 и составила 1,1986 IUml⁻¹, максимальная протеазная активность у изолята *T. atroviride* 323 и соответствует 229,7508 IUl⁻¹. Ксиланазная активность превышала активность промышленного

продуцента ксиланаз и составила для изолятов *T. asperellum* 302, *T. asperellum* 303 и *T. asperellum* 328 8,8172 IUml-1, 8,2469 IUml-1 и 5,0275 IUml-1, соответственно. Таким образом, в результате проведения скрининга грибов *Trichoderma* выявлены продуценты гидролаз из современных и погребенных почв в районе расположения археологических памятников.

2.11. Фитотоксичность изолятов *Trichoderma*

Биотический аспект изучения *Trichoderma* предполагает обязательное изучение её взаимоотношения с эдификаторами, которыми являются фототрофные организмы. При изучении взаимоотношений с растениями выявлены хозяин-специфичные и органотропные виды с различной степенью положительного и отрицательного воздействия на растение. При исследовании влияния культуральной жидкости различных изолятов *Trichoderma* на рост и развитие проростков и корней пшеницы сорта «Люба» отмечена следующая закономерность: наибольшее количество фитотоксических видов выделено для изолятов из могильников (53% токсичные, 34% - стимуляторы, 13% - нейтральный тип воздействия), затем – из погребенных почв городища (42% - токсичные, 38% - стимуляторы, 20% - нейтральный тип воздействия). Среди изолятов современных горизонтов почв обнаружены виды, как со стимулирующим (55%), так и нейтральным (16%) и отрицательным (31%) типами воздействия на растения (Алимова, 2006). Главным регулирующим фактором типа взаимоотношений является спектр метаболитов, выделяемых растением, вид растения, стадия онтогенеза, физико-химические свойства почв, а также спектр возбудителей внутренней инфекции (Алимова, 2006). Отмечена зависимость типа воздействия на растение от концентрации метаболитов *Trichoderma* и типов источника азота и углерода в питательной среде. Эффект разведения вызывал разнонаправленный эффект на растения от стимуляции до ингибирования роста и развития.

Исследование различных субстратов, используемых для культивирования изолятов *Trichoderma* показало, что состав сред определяет фитотоксичность экзометаболитов. Использование в составе питательной среды при культивировании *T. asperellum* 302 источников азота NaNO_2 и KNO_3 оказало стимулирующее действие на рост корней и проростков (длина, сырая и сухая масса) и KNO_3 на прорастание семян пшеницы сорта «Люба», а использование $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – ингибирующее. Использование в составе питательной среды при культивировании *T. asperellum* 302 источников углерода маннита и этилового спирта оказало стимулирующее действие на рост корней и проростков (длина, сырая и сухая масса) и прорастание семян пшеницы сорта «Люба», а использование сахарозы – ингибирующее.

Фитотоксическое действие изолятов из погребенных почв, вероятно, связано с активацией токсинообразования у эндогенных фитопатогенных микроорганизмов семян, сортовыми особенностями современных зерновых культур и конкуренцией с

растением за питательные вещества в почве или с наличием в составе метаболитов изученных штаммов виридиола (дигидропроизводное виридина), который является слабым антибиотиком, но сильным гербицидом.

2.12. Влияние *Trichoderma* на жизнедеятельность почвенных микроорганизмов

Интродукция природных изолятов *Trichoderma* в почву вызывает достоверное увеличение интенсивности азотфиксации, что согласуется с ранее отмеченной другими авторами ролью микромицетов в азотном обмене почв (Умаров, 1986, Мирчинк, 1998; Добровольский и Умаров, 2004). Отмечена зависимость интенсивности влияния на азотфиксирующую активность почв от вида микромицета. Так, при исследовании интродукции природных видов *Trichoderma* в выщелоченный чернозем было показано, что наибольшее достоверное влияние на азотфиксирующую активность почвы оказывают *T. asperellum* и *T. citrinoviride* (увеличение в 3 раза по сравнению с контролем) на 14 день после интродукции. Расщепление природных изолятов на клоны сопровождается изменением у последних способности к участию в азотном обмене. Изменение может быть как в сторону увеличения, так и уменьшения.

Для отдельных видов (*T. koningii*, *T. asperellum*, *T. harzianum*) отмечено положительное влияние на респираторную активность (в 2,5-3 раза относительно контроля).

Таким образом, нами охарактеризованы изоляты рода *Trichoderma*, выделенные из погребенных почв Больше-Кляринского городища (Камско-Устьинский район) и Мурзихинского II могильника (Алексеевский район). Изоляты *Trichoderma*, выделенные из погребенных почв, отличались от современных более высокой интенсивностью окраски колоний; более пышным ростом воздушного мицелия; наличием у представителей секции *Longibrachiatum* способности выделять ярко-желтый пигмент в среду и сильно выраженного кокосового запаха; высокой гетерогенностью популяций, антагонистической активностью по отношению к *F. oxysporum* и ферментативной активностью, фитотоксичностью по отношению с современным сортам культурных растений.

ВЫВОДЫ:

1. Биологическая активность современного выщелоченного чернозема Камско – Устьинского района характеризуется большей напряженностью и функциональной активностью микроорганизмов, что коррелирует с содержанием гумуса (8%) по сравнению с Алексеевским районом (6,5%).

2. В ряду от погребенных гидроморфных и автоморфных до новообразованных гидроморфных и автоморфных горизонтов отмечена тенденция к увеличению биологической активности и содержания гумуса.

3. В антропогенно - нарушенных почвах могильника отмечено полное восста-

новление биологической активности и содержания гумуса за период 3 тыс. лет.

4. Отмечено преобладание в палеопочвах *T. citrinoviride* и *T. longibrachiatum* sect. *Longibrachiatum*, в отличие от современных, где больше *T. asperellum*.

5. Представители секции *Longibrachiatum* можно рассматривать как одни из биоиндикаторных организмов в исследованных погребенных черноземных почвах.

6. Микробиологический мониторинг целесообразно использовать для оценки степени восстановленности почв археологических памятников и выявления изменения свойств микроорганизмов за определенный период времени.

Основные работы, опубликованные по теме диссертации:

Статьи в изданиях, рекомендованных ВАК:

1. **Тухбатова, Р.И.** Микроорганизмы палеопочв Республики Татарстан / Р.И. Тухбатова, Д.И. Тазетдинова, Ф.К. Алимова, Л.В. Мельников // Ученые записки Казанского государственного университета. – 2008. – Т. 150, кн. 2. – С. 225-230.

2. Тарасов Д. С. Применение принципов объектно-ориентированного программирования к описанию и классификации биологических объектов на примере грибов рода *Trichoderma* / Д. С. Тарасов, **Р. И. Тухбатова**, Н. И. Акберова, Ф. К. Алимова // Ученые записки Казанского государственного университета. – 2006. – Т. 148, кн. 3, - С. 133-154.

Статьи в других изданиях:

3. Рафаилова, Э.А. Влияние активированной воды на микромицеты рода *Trichoderma* / Э.А. Рафаилова, **Р.И. Тухбатова**, Д.И. Тазетдинова, Ф.К.Алимова // Вода: химия и экология. – 2008. - №2. – С. 35-40.

Тезисы конференций:

4. Karimova L.Yu. Biodiversity and ecophysiology of *Trichoderma/Hypocrea* strains isolated from the human skull dated as VIII-VI B.C. discovered in the Murzichinsk II Tomb (Republic Tatarstan, Russia) / F.K. Alimova, I. Druzhinina, **R.I. Tukhbatova**, D.I. Tazetdinova, C.P. Kubicek // 9th International Workshop on *Trichoderma* and *Gliocladium*, April 6-8, 2006, Vienna, Austria. 2006. – P. 42.

5. **R. I. Tukhbatova.** The *Hypocrea/Trichoderma* strains isolated from ecosystems in Tatarstan Republic (Russia) / R. I. Tukhbatova, D. I. Tazetdinova, F. K. Alimova, I. S. Druzhinina // XV Congress of European Mycologists, Saint Petersburg, 2007, P. 152-154.

6. Рафаилова Э.А. Молекулярно-генетический анализ изолятов рода *Trichoderma*, выделенных из различных экологических ниш / Э.А. Рафаилова, Д.И. Тазетдинова, **Р.И. Тухбатова** // Материалы 3 международной молодежной конференции “Актуальные аспекты современной микробиологии”, Москва, 2007 г., С. 94-95.

7. **Тухбатова Р.И.** Характеристика потенциально патогенных видов *Trichoderma*, выделенных на территории республики Татарстан / Р.И. Тухбатова, Д.И. Тазетдинова, Ф.К. Алимова // Пятый Всероссийский конгресс по медицинской микологии “Успехи медицинской микологии”. Том X., Глава I. Современная эпидемиология микозов человека. Организация борьбы с массовыми грибковыми инфекциями. – С. 31.
8. Cabrera F.H.A. Interaction of fungi genus *Trichoderma* from the Republic of Tatarstan with microorganisms and plants / R.T. Mukhametshina, **R.I. Tukhbatova**, D.I. Tazetdinova, F.K. Alimova // 10th annual Symposium of Biology Students in Europe, Ancona, 2-10 August, 2006 – P. 125.
9. **Тухбатова Р.И.** Характеристика грибов *Trichoderma* из захоронений на территории Республики Татарстан / Ф.К. Алимова, Д.С. Тарасов, Д.М. Абузярова, А.К. Халилуллина, И.Р. Газимзянов, А.А. Чижевский // тезисы докладов XII международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов – 2005», Москва, 2005, С.107.
10. **Тухбатова Р.И.** Идентификация и классификация грибов рода *Trichoderma* из древних почв / Ф.К. Алимова, А.А. Чижевский, И.Р. Газимзянов, Д.С. Тарасов, Д.М. Абузярова, А.К. Халилуллина, // тезисы 9-ой Международной Пущинской школы-конференции молодых ученых «Биология- наука 21 века», Пущино, 2005, С.153.
11. **Тухбатова Р.И.** Язык представления описаний морфологии грибов на примере *Trichoderma* / Д.С. Тарасов // тезисы 9-ой Международной Пущинской школы-конференции молодых ученых «Биология- наука 21 века», Пущино, 2005, С.276.
12. **Тухбатова Р.И.** Морфологические и молекулярно-генетические подходы для характеристики грибов рода *Trichoderma* из почв и тепличных грунтов республики Татарстан / А.К. Халилуллина, Д.М. Абузярова, Ф.К. Алимова // тезисы 8-ой Международной Пущинской школы-конференции молодых ученых «Биология-наука 21 века», Пущино, 2004, С.141.
13. Алимова Ф.К. Биотехнология. Промышленное применение грибов рода *Trichoderma*: учебно-методическое пособие / Ф.К.Алимова, Д.И. Тазетдинова, **Р.И. Тухбатова**. – Казань: УНИПРЕСС ДАС, 2007. – 234 стр.

Просьба отзывы отправлять по факсу: (843) 238-71-21 или на e-mail:

resedushka@bk.ru.